

일반생물학실험2 레포트 2

실험 5. 발생과정의 이해 (Development)

일반생물학실험2 10분반 20241121 이다은

I. Abstract

닭과 아프리카발톱개구리(*Xenopus laevis*)는 척추 동물의 발생 과정을 연구하는 데 중요한 모델 생물이다. 본 실험은 이 두 종의 수정란을 관찰하여 유성생식을 하는 동물의 발생 과정을 알아보기 했다. 실험의 구체적인 목표는 닭의 초기 발생 단계(24, 48, 96h)를 직접 관찰하고 이를 개구리의 발생 과정과 비교하는 것이다.

이를 위해 닭의 유정란과 아프리카발톱개구리의 발생 과정에 대한 시각 자료를 사용했다. 닭의 경우, 발생 시간 경과에 따른 배아의 기관 형성 과정을 확인하고자 유정란을 인공 부화기에 각각 24시간, 48시간, 96시간 동안 넣어 배양(부화)시켰다. 개구리는 문헌 자료(실험 매뉴얼)를 통해 난할, 포배(blastula), 낭배 형성(gastrula), 신경배 형성(neurula) 등 주요 발생 단계를 분석했다. 닭은 배양 후, 달걀 내부의 배아를 현미경으로 관찰하여 주요 기관의 형태적 변화를 확인했으며, 그 결과 경과한 시간에 따른 예상되는 배아의 모습을 관찰할 수 있었다.

II. Introduction

발생생물학은 생물이 자라서 개체가 만들어지는 과정을 연구하는 생물학의 분과로 단 하나의 세포에서 복잡한 다세포 생물로 변화하는 과정을 다룬다. 개체 발생의 기본적인 과정을 알아보기 위해 다양한 모델 생물들이 사용되며 그중 널리 사용되는 것은 아프리카발톱개구리(*Xenopus laevis*)와 닭이다.

아프리카발톱 개구리는 생리학적, 유전학적, 장기 발달 측면에서 포유류를 포함한 고등 척추동물과 진화적으로 가깝고 실험적 조작이 용이하다는 장점이 있기에 널리 사용된다. 한 번에 많은 수의 알을 생성하고 hcg같은 융모성 성선 자극 호르몬 주입을 통해 계절에 관계없이 산란을 유도할 수 있고, 체외 수정이 쉬우며 배아 발생이 모체 밖에서 일어나 관찰과 조작이 용이하다. 또한 발생 초기 단계까지는 스스로 먹이를 먹지 않고 난황에 의존하므로 EU의 지침에 따른 동물 실험 규제를 받지 않는다는 윤리적 이점이 있다.

닭의 경우는 아리스토텔레스 시대부터 발생학의 모델 생물 중 하나로 사용되어 왔을 정도로 닭의 배아는 비교적 다루기 용이하고 관찰 접근성이 높다. 닭은 포유류와 마찬가지로 양막류 척추동물이기에 닭 배아는 인간을 포함한 포유류의 초기 발생 과정과 매우 유사하다. 특히 신경관 형성, 심장 발달, 사지 발달 등 주요 기관 발생과정이 포유류와 homologous하여 인간의 기형이나 질병을 연구하는 데 이점이 있다. 또한 배아가 모체 밖에 있어 접근과 관찰이 용이하고 실험적 조작이 간편하다는 실용적인 장점도 있다.

아프리카 발톱 개구리와 닭을 함께 다루는 이유는 개구리와 닭은 척추 동물의 진화 과정에서 매우 다른 발생전략을 가지기 때문이다. 양서류인 개구리는 물속에서 알을 낳고, 배아는 올챙이 단계를 거쳐 변태한다. 양막류인 닭은 육상 생활에 적응하기 위해 양막란을 발달시켰다. 배아는 양막, 융모막, 요막과 같은 특수한 배외막들의 보호를 받으며 알에서 발생한다. 따라서 이 둘을 비교하면, 척추동물이 공유하는 낭배형성, 신경관 형성 등의 발생과정과 각 환경에 적응하며 진화한 분화한 발생 전략의 차이도 동시에 이해할 수 있다.

따라서 본 실험에서는 닭의 유정란을 24시간, 48시간, 96시간 동안 배양하여 주요 기관의 변화를 현미경으로 직접 관찰한다. 또한 자료를 통해 아프리카발톱개구리의 초기 발생 과정(난할, 포배, 낭배, 신경배)을 학습한다. 최종적으로 양서류와 조류의 발생 과정을 비교 분석하여, 척추동물 발생의 공통적인 원리와 진화적 차이점을 이해하고자 한다.

III. Materials and Methods

개구리의 배아 실험은 자료 관찰로 대체하였다. 닭의 수정란 실험의 과정은 다음과 같다. 실험복을 착용하였다. 실험에 사용된 용액으로는 생리적 조건을 유지하기 위한 37°C PBS 용액, 육안 배아 관찰을 위한 neutral red이 있다. 유정란을 실험에 사용하며 습도와 온도(38.5°C)를 유지한 상태의 incubator에서 가로로 눕힌 상태로 부화시킨다. 24시간, 48시간, 96시간 동안 부화시킨 달걀을 사용한다. 이후 패트리접시에 yolk가 깨지지 않게 주의하며 달걀을 가로로 놓은 뒤 껌데기를 가위로 조금씩 쪼개어 내용물을 꺼내었다.

96시간 동안 부화시킨 달걀부터 관찰하였다. 96시간 동안 부화한 배아는 용이한 관찰을 위해 난황과 분리하기 전에 우선 광학현미경에 올려 혈관에 혈액이 흐르는 것, 심장이 뛰는 것을 관찰하였다. 이후 난황에서 배아를 분리하여 배아만 관찰한다. 난황에서 가위로 주변 연결부와의 연결을 제거하여 배아를 분리한 후 숟가락으로 배아를 떠 패트리 접시위에 옮겨둔다. PBS를 활용하여 wash하고 neutral red으로 배아를 염색한다. 이후 패트리접시의 뚜껑으로 배아를 옮겨 발생현미경을 통해 관찰하였다.

48시간과 24시간동안 부화한 배아도 난황에서의 배아를 먼저 관찰한 후 배아만 따로 분리해 관찰하는 순서로 진행했다. 난황 위에 있는 배아에 neutral red로 염색한 후 과도한 neutral red 용액을 PBS로 씻어내어 배아가 잘 보이도록 한 채 패트리 접시 째로 현미경에 올려 배아를 관찰한다. 48시간과 24시간의 경우 배아가 아직 크게 발달하지 않아 배아를 잃어버릴 우려가 있으므로 숟가락 대신 거름 종이에 부착하는 방법으로 배아를 옮겨 관찰하였다. 난황위의 배아를 염색하는 과정을 추가적으로 진행하는 것 말고는 96시간 배아를 관찰하는 것과 같은 과정을 통해 배아관찰을 수행했다

IV. Results

자료를 통해 아프리카발톱개구리 배아의 초기 발생 과정을 관찰하였다. 난할기, 낭배기, 신경배기, 기관형성기, 유생기의 배아의 특징을 확인하였다. 초기 발생 과정 중 난할기에서는 수정란(Stage 1, Figure 1 - a)이 빠른 세포 분열을 거듭하였다. ([Nieuwkoop and Faber, 1994]의 표준 발생 단계(Stage)를 기준으로 배아를 분류했다.) 관찰 결과, 난할이 진행됨에 따라 8세포기(Stage 4, Figure 1 - b)와 많은 수의 할구로 덮인 상실배(Stage 7, Figure 1 - c) 단계를 거쳐, 배아 내부에 포배강이 형성된 포배(Stage 8, Figure 1-d)가 되는 것을 확인하였다.

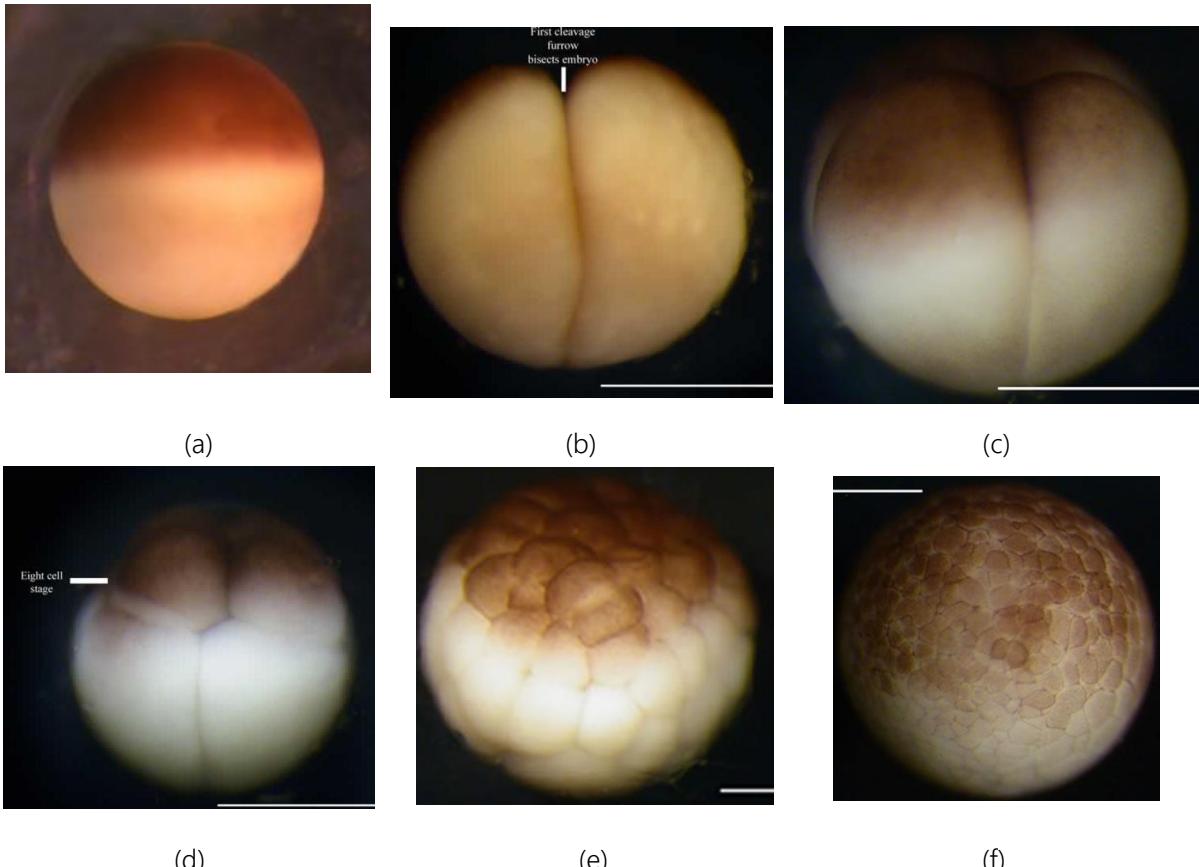


Figure 1. 아프리카발톱개구리의 배아의 난할기 모습(Stage 1, 4, 7, 8).

- (a) stage 1 - 진한 색의 동물반구와 연한 색의 식물반구로 구분된다.
- (b) stage 2 – 2세포기
- (c) stage 3 – 4세포기
- (d) stage 4 – 8세포기, 동물반구와 식물반구의 할구의 크기가 다른 것을 볼 수 있다.
- (e) stage 7 – 상실배 시기로 많은 수의 할구가 관찰된다.
- (f) stage 8 – 포배강이 형성되었을 포배 시기이다.

(Images from Xenbase [3].)

포배기의 다음 단계인 낭배기는 낭배기의 시작은 Stage 10 (Figure 2 - a)에서 관찰된 바와 같이, 배아의 등 쪽에 초승달 모양의 원구 배순부(dorsal lip of blastophore)가 처음 형성되는 것으로 확인되었다. 발생이 진행되어 Stage 11 (Figure 2 - b)에 이르자 원구가 확장되면서 아직 내부로 들어가지 않은 내배엽 세포 덩어리인 난황마개(yolk plug)가 뚜렷하게 관찰되었다.

낭배기 후기인 Stage 12 (Figure 2 - c)에는 난황마개가 배아 내부로 거의 다 들어가 원구의 크기가

작아졌으며, 낭배기가 완료됨과 동시에 다음 단계인 신경배기의 시작을 알리는 신경판(neural plate)이 등 쪽 표면에 발달하는 것을 관찰할 수 있었다.

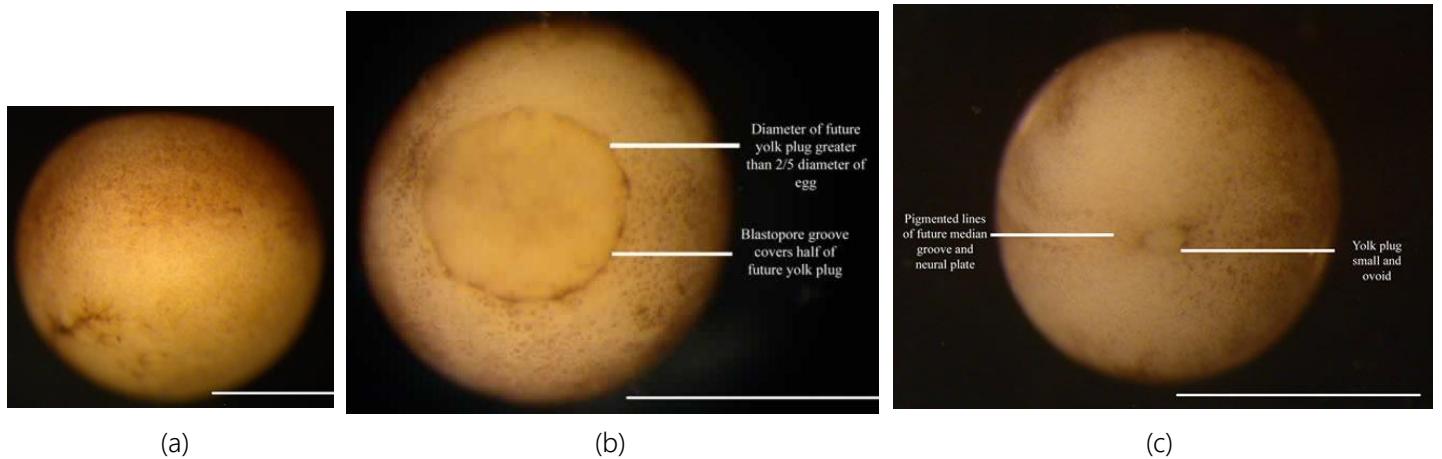


Figure 2. 아프리카발톱개구리 배아의 낭배기 모습(Stage 10, 11, 12).

(a) stage 10 – 배아의 등쪽에 원구 배순부(dorsal lip of blastophore)가 처음으로 관찰된다.

(b) stage 11 – 난황마개(yolk plug)가 관찰된다.

(c) stage 12 후기 – 신경판을 관찰할 수 있고 원구의 크기가 작아졌다.

(Images from Xenbase [3].)

낭배기가 완료된 후(Figure 2 -c), 배아는 등 쪽의 신경판(neural plate)이 발달하여 신경관(neural tube)을 형성하는 신경배기(neurulation) 단계로 이행하였다.

Stage 15 (Figure 3 - a)에서는 신경판의 가장자리가 융기하여 신경 주름(neural folds)을 형성하였고, 이 주름들 사이로 움푹 들어간 신경홈(neural groove)이 뚜렷하게 관찰되었다.

이후 두 신경 주름이 등 쪽 중앙선에서 만나 융합하면서, Stage 20 (Figure 3 - b)에 이르러서는 신경관이 완전히 닫힌 것을 확인하였다.

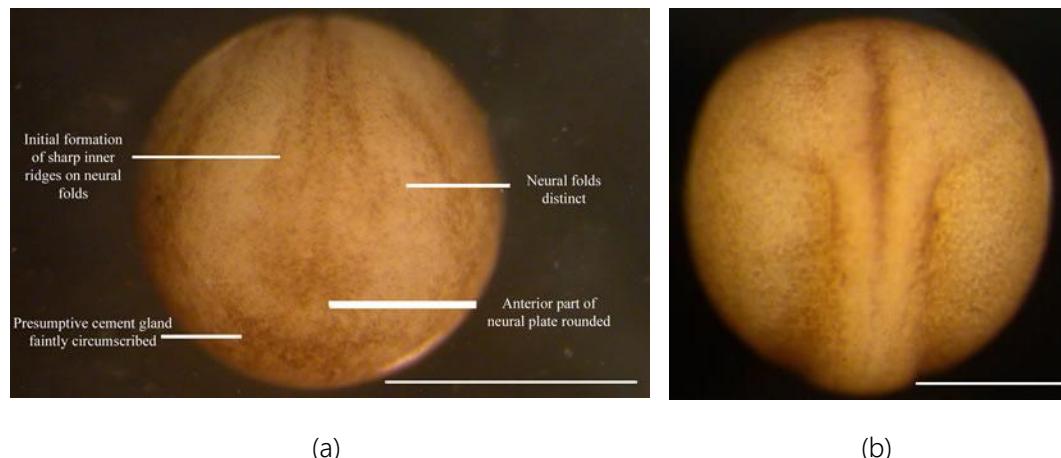


Figure 3. 아프리카발톱개구리 배아의 신경배기 모습(Stage 13, 15, 20).

(a) stage 15– neural folds가 신경홈(neural groove)을 형성했다.

(b) stage 20– 신경 주름이 융합하여 신경관이 닫혔고 원구의 크기가 작아졌다.

(Images from Xenbase [3].)

아프리카발톱개구리 배아의 기관형성기는 뚜렷한 형태적 변화를 거치며 진행된다.

초기 단계인 Stage 24에서는 아가미가 발달하는 부위가 눈 부분보다 더 돌출되는 특징이 관찰됩니다. 이후 Stage 32가 되면 꼬리가 발달하기 시작하지만, 아직 완전히 자라지 않아 꼬리의 길이가 폭의 약 1.5배 정도로 짧은 모습을 보인다.

발달이 더 진행되어 Stage 35~36에 이르면 꼬리가 충분히 성장하여, 길이가 폭의 약 3배 정도까지 길어진다. 마지막으로 Stage 41이 되면, 이전 단계와는 다르게 proctodeum(항문와)이 몸통 축에 대해 거의 90도에 가까운 각도를 이루게 된다.

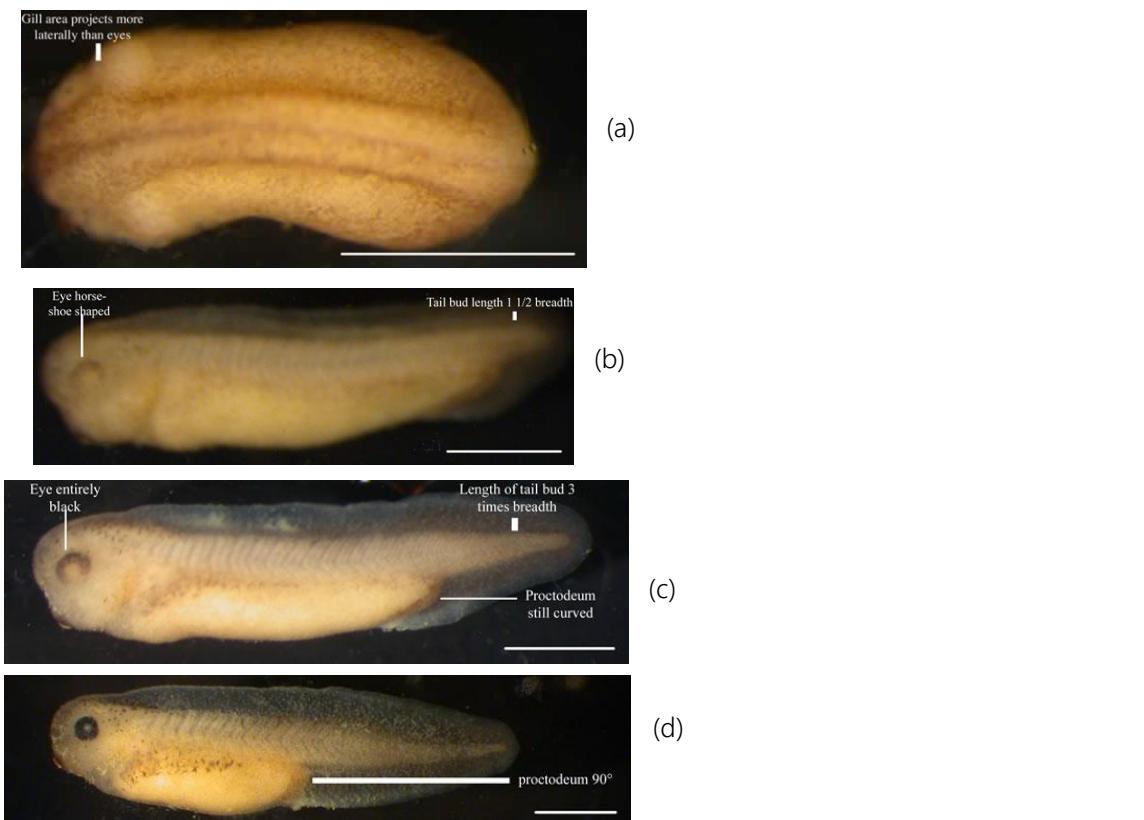


Figure 4. 아프리카발톱개구리 배아의 기관형성기 모습(Stage 24, 32, 35~36, 40).

(a) stage 24 – 아가미가 발달하는 부위가 눈 부분보다 더 튀어나와 있다.

(b) stage 32 – 꼬리가 아직 다 자라지 않아 꼬리의 길이가 폭의 약 1.5배 정도로 비교적 짧다. 머리 아래 쪽에는 검은색의 흡반이 보이기 시작한다.

(c) stage 35~36 – 꼬리가 성장하여 길이가 폭의 3배 정도이다.

(d) stage 41 – proctodeum이 이전과 다르게 몸통 축에 대해 거의 90도 각도를 이루고 있다.

(Images from Xenbase [3].)

기관형성기(Figure 4)를 거친 배아는 입이 열려 스스로 먹이 섭취를 시작하는 유생기로 발달하였다.

Stage 46 (Figure 5 - a)은 유생기가 시작되는 시점으로, 등 쪽에서 관찰했을 때 머리가 넓어지고 눈

뒤쪽으로 피부를 통해 내부 아가미 구조가 뚜렷하게 관찰되었다. 또한 등 쪽을 따라 색소 세포가 밀집된 것을 확인하였다.

이후 발생이 더 진행된 Stage 50 (Figure 5 - b)에 이르러서는 몸통에 비해 꼬리가 매우 길게 신장하여 활발한 유영에 적합한 올챙이의 형태를 보였다. 이 시기는 뒷다리 쌍(hindlimb bud)이 발달하는 것이 특징이다.



Figure 5. 아프리카발톱개구리 배아의 유생기 모습(Stage 46, 50).

(a) stage 46- 눈 뒤쪽에 한쌍의 노란빛의 아가미 구조가 보인다.

(b) stage 50- 몸통에 비해 꼬리가 매우 길다.

(Images from Xenbase [3].)

아프리카발톱개구리 배아의 발생 과정 관찰 결과에 이어, 유정란에서 관찰한 닭 배아의 초기 발생 결과는 다음과 같다

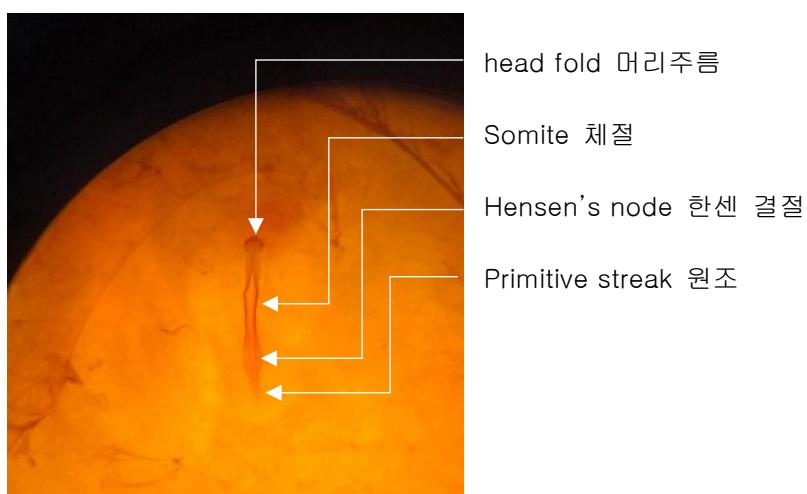


Figure 6. 24h 동안 부화한 닭의 배아.

초기 발생 과정의 주요 구조인 머리주름(head fold), 체절(somite), 한센 결절(Hensen's node) 및 원조(primitive streak)가 표시되어 있다.

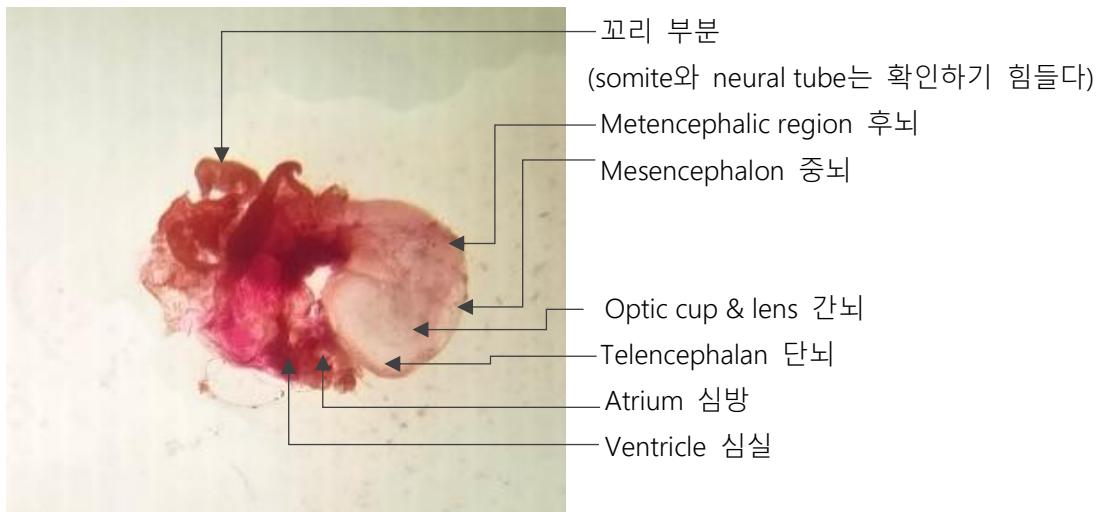


Figure 7. 48h 동안 부화한 닭의 배아

단뇌(Telencephalon), 간뇌(Diencephalon), 중뇌(Mesencephalon), 후뇌(Metencephalic region)로 뇌가 분화된 모습과 함께 안배 및 렌즈(Optic cup & lens)가 뚜렷하게 관찰된다. 또한 심방(Atrium)과 심실(Ventricle)을 포함한 심장 구조 및 꼬리 부분(Tail part)이 확인된다. 체절(somite)과 신경관(neural tube)은 본 이미지에서 명확히 식별되지 않는다.

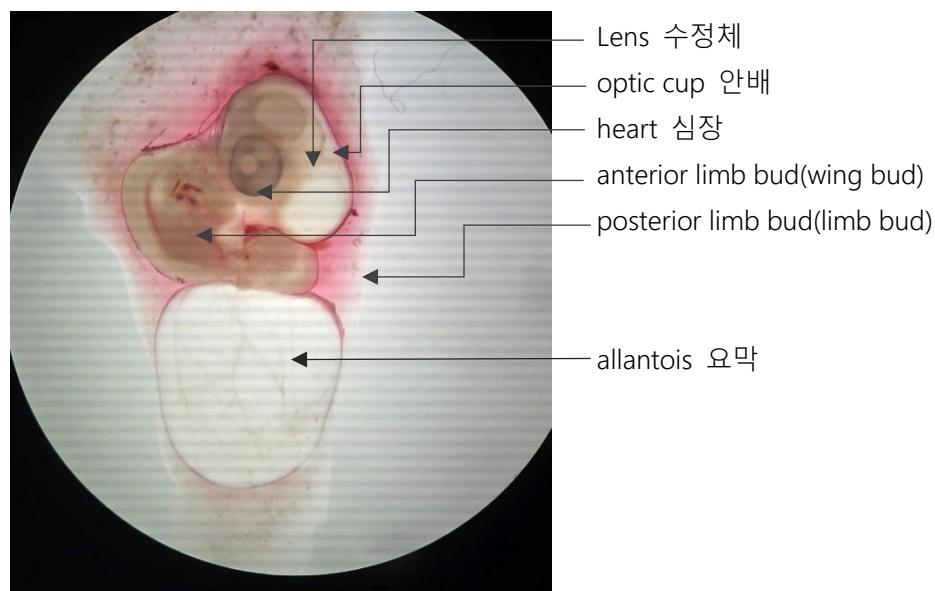


Figure 8. 96h 동안 부화한 닭의 배아

수정체(Lens)와 안배(optic cup)를 포함한 눈 구조가 뚜렷하게 발달한 모습이 보인다. 또한 심장(heart), 앞다리싹(anterior limb bud, 날개싹)과 뒷다리싹(posterior limb bud), 그리고 배아 밖으로 크게 자라난 요막(allantois)이 관찰된다.

Table 1. Figure 6, 7, 8에 제시된 닭 배아의 발달 단계(24h, 48h, 96h)별 관찰 특징 정리

배양시간	주요 관찰 구조	발달 단계 특징
24시간	머리주름(headfold), 체절(somite), 한센 결절(Hensen's node), 원조(primitive streak)	원조의 형성과 축(axis) 설정, 체절 분화 시작
48시간	단뇌(telencephalon), 간뇌(diencephalon), 중뇌(mesencephalon), 후뇌(metencephalic region), 안배(optic cup), 렌즈(lens), 심방(atrium), 심실(ventricle), 꼬리(tail)	중추신경계의 주요 부분 분화, 심장 분화 시작
96시간	심장(heart), 수정체(lens), 안배(optic cup), 앞다리싹(anterior limb bud), 뒷다리싹(posterior limb bud), 요막(allantois)	시각 기관 및 사지 발달, 요막 형성

V. Discussion

이번 실험에서는 아프리카발톱개구리와 닭의 발생과정을 단계별로 정리하고 비교하여 척추동물 발생의 공통성과 다양성을 이해하고자 하였다. 우선 아프리카발톱개구리의 발생 단계와 각 단계의 특징에 대해 먼저 정리해보고자 한다.

개구리의 수정란의 뚜렷한 특징은 Figure 1(a)에서 확인할 수 있듯 수정란은 짙은 색의 동물반구, 옅은 색의 식물반구로 나뉘어 분포하여 극성을 띤다는 것이다. 식물반구에는 동물반구보다 난황이 많이 포함되어있는데 이러한 난황의 불균등한 분포 때문에 이후 발생 과정에 독특한 영향을 미친다.

Figure 1(b)와 (c)에서는 각각 2세포기, 4세포기의 수정란을 확인할 수 있는데 이는 각각 동물반구와 식물반구를 가로지르는 축과 평행하게 일어난다. Figure에서 확인할 수 있듯 수정란의 할구들은 대칭적이다. 하지만 Figure 1(d)에서 확인가능한 8세포기의 수정란의 할구는 비대칭적이다. 4세포기에서 8세포기로 넘어갈 때 행해지는 난할은 앞의 두 난할과 달리 동물반구와 식물반구를 가로지르는 축과 수직하게 난할되는데 이때 식물반구에 더 많이 분포하는 난황은 난할을 방해하는 역할을 한다. 이 때문에 식물반구의 할구크기가 더 크게 난할이 진행되어 할구가 비대칭적으로 분포하게 된다.

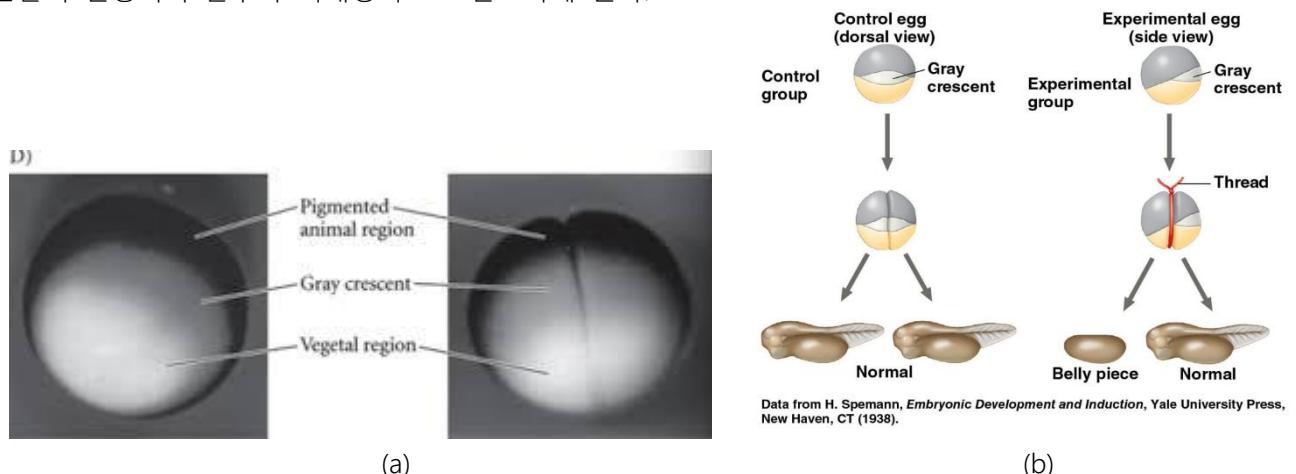


Figure 9. 회색 반월을 관찰할 수 있다.

(a) stage 1, 2의 개구리 배아 – 동물반구와 식물반구 사이에 회색반월을 확인할 수 있다.

(b) 회색 반월(Gray crescent) 유무에 따른 배아 발달 비교.

또한 Figure 1 (a), (b)에서는 확인되지 않지만 stage 1,2에는 Figure 9 (a)에서 관찰할 수 있듯 동물반구와 식물반구 사이에는 회색 반월이 있다. 이 반월은 수정란에 sperm이 수정된 부분의 반대쪽에 형성된다. 회색 반월은 배아의 dorsal 부분의 발달에 관여한다. 회색 반월의 중요성은 Figure 9 (b)에 나타난 슈페만(H. Spemann, 1938)의 고전적인 실험을 통해 명확히 알 수 있다.

- 대조군: 첫 번째 난할로 생성된 두 개의 할구가 모두 회색 반월의 일부를 나눠 갖도록 할 경우 두 할구는 각각 완전한 정상 올챙이로 발달한다.
- 실험군: 인위적으로 난할면을 한쪽 할구는 회색 반월 전체를 갖고 다른 쪽 할구는 회색 반월을 전혀 갖지 못하도록 분리한다. 그 결과, 회색 반월을 받은 할구는 정상 올챙이로 발달했지만, 회색 반월을 받지 못한 할구는 dorsal부분이 전혀 발달되지 않았다.

이 실험은 회색 반월에 배아의 정상적인 등-배 축 형성과 등쪽 구조 발달에 필수적인 결정 인자가 포함되어 있음을 강력하게 시사한다.

난할이 계속 진행되면서, 배아는 세포가 뭉쳐진 모양의 상실배(Figure 1 (e))시기를 거친다. 이 단계의 변화는 단순히 세포 수가 증가하는 것뿐만 아니라, 배아 내부에 포배강이라 불리는 빈 공간이 형성된다. 이 공간은 다음 단계인 포배(Figure 1 (d), Stage 8)에서 뚜렷하게 관찰된다.

포배기 이후 배아는 낭배형성 과정을 시작한다. 낭배 형성은 배아의 dorsal부위 즉, 이전에 회색반월이 있던 영역에서 시작된다. Stage 10에서는 원구(blastopore)가 관찰된다. 원구란 세포들이 내부로 이동하는 입구이다. 이러한 원구 위에는 dorsal lip이 발달된다. Stage 10 상태인 Figure 2 (a)에서는 원구가 곡선 또는 초승달 모양을 띠는데 이후 stage 11(Figure 2 (b))에서는 원구가 점차 확장되어 둥근 모양의 형태의 원구로 변한다. 이 원구의 위쪽 가장자리, 즉 세포 이동이 가장 먼저 활발하게 일어나는 부위를 dorsal lip이라고 부르는데 이는 척추동물 발생에서 매우 중요한 형성체 역할을 한다

Stage 11에서는 dorsal lip을 통해서 내배엽과 중배엽이 될 세포들이 배아 내부로 들어간다. 이 과정에서 원장이라는 공간이 형성되는데 이는 소화관으로 발달된다. Stage 12는 stage 11보다 낭배 형성이 진행되며 세포의 이동에 의해 원구의 크기가 작아져 낭배기가 끝날 즈음에는 난황을 많이 가진 식물반구의 큰 세포들이 내부로 들어가면서 원구를 막는 듯한 구조인 난황마개를 갖는다. 이 과정을 통해 배아는 바깥쪽의 외배엽(ectoderm), 안쪽의 내배엽(endoderm), 그리고 그 사이의 중배엽(mesoderm)이라는 3개의 기본 배엽층을 확립하게 된다. 외배엽은 이후 피부와 신경계로 발달하고 중배엽은 근육과 뼈를, 내배엽은 소화기관으로 발달하게 된다.

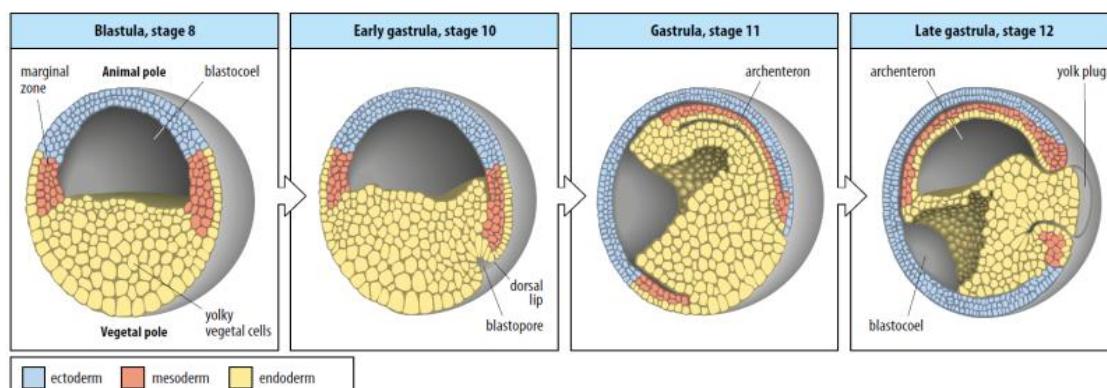


Figure 10. 낭배 형성(Stage 10-12) 과정 모식도.

포배(Blastula, stage 8)에서 낭배 형성이 시작되면, 등쪽의 세포들이 함입하여 dorsal lip을

형성한다(Early gastrula, stage 10). 내부로 세포가 이동하면서 원장이 발달하고 기존의 포배강은 축소된다(Gastrula, stage 11).

범례는 3배엽을 나타낸다: 외배엽(ectoderm, 파란색), 중배엽(mesoderm, 붉은색), 내배엽(endoderm, 노란색).

낭배 형성이 완료되어 3배엽이 확립되면 배아의 등쪽에서는 신경배 형성 단계가 시작된다. 신경배 형성은 낭배기 때 내부로 함입된 척삭과 등쪽 중배엽이 외배엽에게 신경이 되도록 신호를 보내며 시작된다. 이 신호를 받은 등쪽 외배엽은 주변의 표피가 될 세포들과 달리 두꺼워지며 편평한 신경판(neural plate)을 형성한다. 이후 이 신경판의 양쪽 가장자리가 점차 융기하여 한 쌍의 신경 주름(neural folds)을 만든다. (Figure 3 (a)) 또한 신경판의 중앙부는 아래로 학물되면서 신경판이 접하면서 신경흉(neural groove)이 형성되고 두 신경주름이 서로 붙으면 신경관이 형성된다. (Figure 3(b)) 신경관은 후에 뇌와 척수로 발달한다.

신경배 형성 이후, 배아는 능동적인 유생으로 이행하기 위한 기관형성기에 돌입한다. 이 시기(Figure 4)의 가장 큰 특징은 독립적인 생존에 필수적인 기관들이 형태를 갖추는 것입니다. (a)에서 관찰된 아가미싹(gill bud)의 발달은 장차 수중 호흡을 담당할 기관의 시작을, Figure 4 (d)에서 확인된 항문(proctodeum)의 형성을 통해 소화계의 완성을 확인할 수 있고 항문과의 90도 각도 변화는 소화관이 완성되고 몸의 앞-뒤 축이 명확히 확립되는 과정을 시각적으로 보여주는 지표라고 볼 수 있다. 또한 Figure 4 (b)부터 흡반이 관찰된다. 흡반(sucker)은 이름에서 알 수 있듯 아직 유영이 미숙한 초기 배아가 바닥이나 물체에 몸을 고정하여 에너지를 보존하고 포식자로부터 숨을 수 있게 하는 중요한 생존 전략이다.

이후 배아는 (c)와 같이 꼬리가 급격히 신장하며 먹이 탐색과 이동에 유리한 유생기(Figure 5)로 이행한다. Figure 5 (b)에서 보듯 몸통에 비해 매우 길어진 꼬리는 **활발한 유영(locomotion)**을 가능하게 하여, 스스로 먹이를 찾고 포식자를 피하는 **독립적인 생명체(free-living larva)**가 되었음을 시사합니다. 마지막으로, 뒷다리 싹은, 수중 생활을 하던 올챙이가 육상 생활에 적합한 성체 개구리로 변하는 첫 번째 형태학적 징후이다.

Table 2. 아프리카발톱개구리(*Xenopus laevis*)의 발생 단계별 주요 특징 요약

발생 시기 Stage (Figure)	관찰 Content	주요 관찰 내용 Content	발생학적 특징 및 의의 Characteristics and Significance
수정 및 난할 (Fertilization & Cleavage)	Stage 1~8 (Fig. 1, 9)	- 동물/식물반구의 뚜렷한 극성 (Fig. 1-a) - 회색 반월 형성 (Fig. 9-a) - 8세포기부터 불균등 난할 (Fig. 1-d)	- 난황의 불균등 분포: 식물반구의 난황이 난할을 방해하여 할구 크기가 비대칭적임. - 회색 반월 (Gray Crescent): 피증 회전으로 형성. 장차 배아의 등(Dorsal) 쪽이 될 부위이며, 슈페만 형성체를 유도함 (Fig. 9-b).
포배기 (Blastula)	Stage 8 (Fig. 1-d)	- 배아 내부에 포배강(Blastocoel) 형성.	- 낭배 형성 시 세포가 이동할 내부 공간을 제공함.

낭배 형성 (Gastrulation)	Stage 10~12 (Fig. 2, 10)	- 원구(Blastopore) 및 원구배순부(Dorsal Lip) 형성 (Fig. 2-a). - 원장(Archenteron) 형성. - 난황마개(Yolk Plug) 형성 (Fig. 2-c).	- 동적 세포 이동(함입/함몰): 세포들이 내부로 이동하며 3배엽(외/중/내배엽)을 확립함. - Dorsal Lip: 회색 반월 영역에서 유래하며, **슈페만-망골트 형성체(Organizer)**로 기능함. - 원장: 원시 소화관으로 발달함.
신경배 형성 (Neurulation)	Stage 15, 20 (Fig. 3)	- 신경판(Neural Plate) 형성. - **신경 주름(Folds)**과 신경豁(Groove) 관찰 (Fig. 3-a). - 신경 주름 융합 및 신경관(Tube) 닫힘 (Fig. 3-b).	- 신경 유도: 척삭(중배엽)이 그 위의 외배엽을 유도하여 신경판을 형성함. - 중추신경계(CNS) 형성: 신경관은 장차 뇌와 척수로 발달함.
기관 형성기 (Organogenesis)	Stage 24~41 (Fig. 4)	- 아가미싹(Gill Bud) 돌출 (Fig. 4-a). - 흡반(Sucker) 발달 (Fig. 4-b). - 꼬리(Tail) 신장 (Fig. 4-c). - 항문(Proctodeum) 형성 (Fig. 4-d).	- 독립 생존을 위한 주요 기관(호흡, 부착, 소화)의 형태가 갖춰짐. - 배아의 앞-뒤 축(A-P axis)이 길어짐.
유생기 (Larva)	Stage 46, 50 (Fig. 5)	- 내부 아가미 구조 관찰 (Fig. 5-a). - 꼬리가 몸통 대비 매우 길어짐 (Fig. 5-b). - 뒷다리 싹(Hindlimb Bud) 발달 (Fig. 5-b).	- 독립 생활(Free-living): 활발한 유영(이동) 및 먹이 섭취가 가능한 울챙이 형태가 됨. - 변태(Metamorphosis) 예고: 뒷다리 싹은 육상 생활을 위한 성체로의 변화가 시작됨을 알리는 징후임.

아프리카발톱개구리의 발생 과정을 정리한 후 닦의 발생 과정을 분석하였다. 닦은 개구리와 달리 난할이 상당히 진행된 채 알로 산란된다. 닦의 달걀의 내부는 난황과 난할이 진행된 blastoderm이 있다. 난황은 배아에게 영양분을 공급하는 역할을 하고 blastoderm이 embryo이다. 본 실험에서는 24시간, 48시간, 96시간 동안 부화시킨 닦 배아의 특징을 관찰하였다. 우선 24시간 배아에서는 머리주름(head fold), 체절(somite), 한센 결절(Hensen's node) 및 원조(primitive streak)을 관찰하였다. 머리주름은 2차원의 평평한 배반엽에서 배아의 머리 부분이 처음으로 입체 구조를 형성하여 난황으로부터 분리되기 시작하는 중요한 단계이다. 체절은 척추와 근육으로 발달하는 부위로 척추동물의 공통적 특징인 분절화된 신체구조의 시작이다.

원조와 한센결절은 개구리의 원구 및 dorsal lip과 기능적으로 상동한 구조이다. 이 구조는 Koller's sickle에서 형성된다. Figure 11에서 낭배 형성의 시작 과정을 명확히 보여준다.

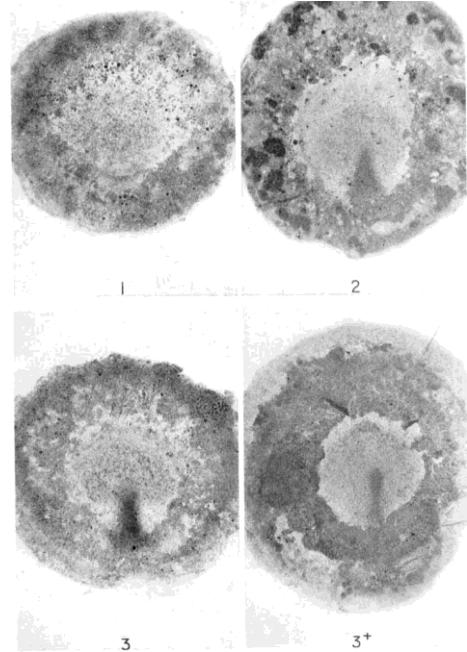


Figure 11. 닭 배아의 낭배 형성 초기 및 원조(Primitive Streak) 발달.

본 이미지는 blastoderm 후방에서 낭배 형성이 시작되는 과정을 보여준다.

- **Stage 2:** 배아 후방(이미지 아래쪽)에 초승달 모양의 두꺼운 세포층인 Koller's sickle이 뚜렷하게 관찰된다.
- **Stage 3:** Koller's sickle 중앙부에서 세포들이 위쪽으로 수렴 및 신장(convergence and extension)하여 짧은 **원조(primitive streak)**를 형성하기 시작한다.
- **Stage 3+:** 원조가 더욱 길게 발달하며, 그 선단부(tip)에 장차 '형성체(organizer)'가 될 헨센 결절이 명확해진다.

(Images from [2])

이후 koller's sickle에서 형성된 원조가 최대로 신장하면 그 선단에 '형성체(organizer)'인 헨센 결절이 완성된다 (Figure 12, Stage 4). 배아의 머리-꼬리 축 신장은 바로 이 헨센 결절의 후퇴라는 독특한 과정을 통해 일어난다. 헨센 결절은 배아의 머리가 될 전방에서 꼬리가 될 후방으로 이동하며, 그 경로에 척삭을 순차적으로 위치시킨다. 이 척삭은 바로 위의 외배엽을 유도하여

신경관을 형성시키고, 그 양측의 중배엽은 체절로 분절시킨다 (Figure 12, Stage 8-10).

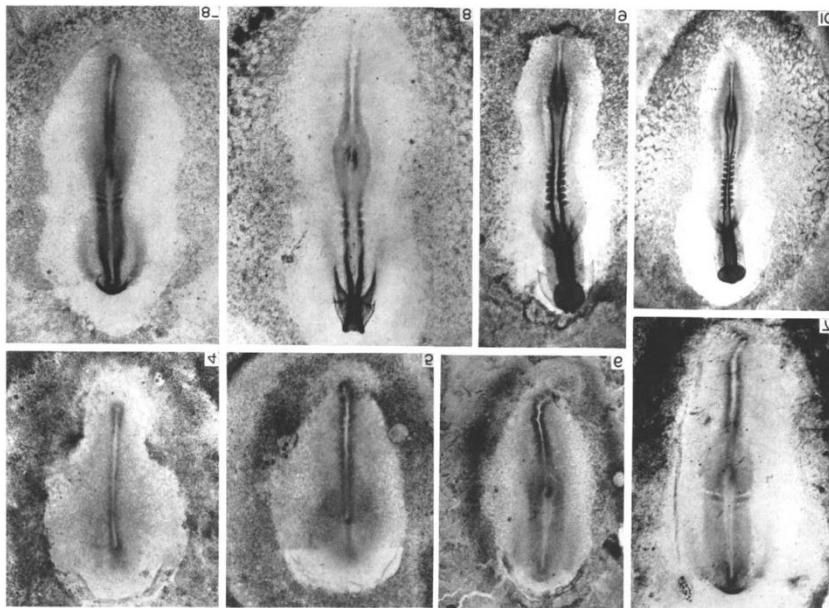


Figure 12. 닝 배아의 헨센 결절 Regression과 축 신장.

본 이미지는 원조가 최대로 신장한 시점(Stage 4)부터 헨센 결절이 후퇴하며 척삭과 체절을 형성하는 과정(Stage 7-10)을 보여준다.

- **Stage 4 (아래줄 좌측):** 원조가 최대로 신장하고, 헨센 결절이 배아의 가장 전방(anterior)에 위치한 후퇴 시작점이다.
- **Stage 7-10 (윗줄, 순차적):** 헨센 결절(이미지의 어둡고 두꺼운 선단부)이 배아의 후방(posterior)으로 점차 이동(후퇴)하는 것이 관찰된다.
- **증거 (체절):** 헨센 결절이 '지나간 자리'; 즉 결절의 전방(머리 쪽)으로 형성된 체절의 수가 Stage 8에서 Stage 10으로 갈수록 명확하게 증가한다. 이는 헨센 결절이 후퇴하며 순차적으로 축 구조를 '내려놓았음'을 증명한다.

(Images from [2])

결론적으로, 헨센 결절의 후퇴는 머리에서 꼬리 방향으로 척삭, 신경관, 체절을 순서대로 구축하며 배아의 신체 계획을 완성하는 핵심 메커니즘이다.

48시간의 배아에서는(Figure 7) 뇌와 심장이 발달한 것을 볼 수 있다. 신경관의 앞부분이 급격히 발달하여 5개의 뇌 분절(단뇌, 간뇌 등)로 분화된 것이 뚜렷합니다. 이는 척추동물의 특징인 머리 쪽으로 복잡한 감각 및 처리 기관이 집중되는 과정을 보여줍니다. 특히 안배(optic cup)와 렌즈(lens)의 동시 발달에서 뇌의 일부인 안배가 그 위를 덮는 외배엽을 유도하여 렌즈를 형성하게 하는 조직 유도를 확인할 수 있다. 또한, 개구리와 달리 난황으로부터 영양분을 공급받아야 하는 닝 배아에게는 심장의 조기 발달이 필수적이다. 심방과 심실이 구분되기 시작하는 것은, 이 영양분을 배아 전체로 수송할 순환계가 이미 기능하고 있음을 시사한다.

96시간 배아(Figure 8)에서는 앞다리싹과 뒷다리싹이 관찰된다. 앞다리싹은 후에 날개로 발달되고 뒷다리싹은 다리로 발달된다. 이 다리싹들은 육상 척추동물의 공통 조상으로부터 유래한 사지가 발달하고 있음을 나타낸다. 또한 요막이 관찰되는데 이는 배설물을 저장하고 가스 교환을 담당하는 '배아 밖 막'이다. 이는 물속에서 배설물과 가스를 쉽게 확산시킬 수 있는

개구리(무양막류)와 달리, 닫한 알 속에서 발생하는 닦(양막류)이 육상 생활에 적응하기 위해 필요하다. 결론적으로, 닦의 발생은 신경관, 체절, 뇌 분화 등 척추동물의 공통적인 발생 패턴을 따르면서도, 원조, 조기 심장 발달, 요막과 같은 구조를 통해 '난황이 많은 알'과 '육상 환경'이라는 조건에 특화된 발생 전략을 명확히 보여준다.

이렇게 아프리카발톱개구리의 초기발생단계와 닦의 초기 단계에는 차이점이 있고, 공통점도 존재한다. 우선 아프리카발톱개구리와 닦의 초기발생단계의 공통점은 닦 배아의 원시선 및 핸센 결절과 개구리의 원구 배순부를 통한 신경관 형성을 유도하는 구조가 있다는 것과 닦의 체절, 개구리의 신경배형성, 뇌분화를 통해 척추동물의 공통적인 발달 과정을 찾아볼 수 있다. 물론 발생 환경과 형태는 다르지만, 이는 배아의 신체 축을 결정하는 동일한 기능을 수행하는 상동 구조이다. 이는 척추동물이 공통의 조상으로부터 진화하며 각자의 환경에 맞게 발생 전략을 조절했음을 보여준다.

차이점은 크게 두가지로 나눌 수 있다. 첫째는 난황의 양과 난할 방식이다. 개구리는 난황이 비교적 적당히 있어, 수정란 전체가 나누는 완전 난할을 한다. 그 결과 배아는 속이 빈 공 모양(포배)이 된다. 반면, 닦은 난황이 매우 많기 때문에, 난황이 없는 윗부분의 일부만 나누는 부분 난할을 한다. 두번째 차이점은 발생환경에 따른 생존 전략의 분화이다. 수중에서 발생하는 개구리(무양막류, Anamniote)는 배설물(암모니아)을 물로 바로 확산시키고 아가미(Fig. 4-a)로 호흡한다. 하지만 알 속에서 발생하는 닦(양막류, Amniote)은 육상 생존을 위한 장치가 필요하다. 96시간 배아에서 관찰된 요막(allantois)(Fig. 8)을 통해 그 차를 확인할 수 있다. 또한, 이 난황을 통해 영양분을 공급받는 닦은 영양분을 배아 전체로 수송하기 위해 닦은 48시간(Fig. 7)에 이미 복잡한 심장을 발달시키지만, 개구리는 독립적인 섭식이 가능한 유생기 이후에 순환계가 완성된다.

결론적으로, 개구리와 닦은 발생 형성체, 신경관, 체절 등에서 척추동물의 공통 조상을 공유함을 명확히 보여주면서도, 각자가 처한 난황의 양과 발생 환경이라는 환경 차이에 적응하여 서로 다른 난할 방식과 요막 같은 특수 구조를 진화시켰음을 본 실험을 통해 확인할 수 있다

또한 본 실험은 닦 배아의 발생 과정을 시간대별로 관찰하는 것을 목적으로 하였으나, 초기 배아(24, 48시간) 단계에서 관찰 성공률이 매우 낮게 나타났다. 이에 대한 원인을 분석하고 향후 실험의 성공률을 높이기 위한 개선 방안을 고찰하였다.

Table 3. 닦의 배아 관찰 성공률

부란 시간 (Incubation Time)	시도 횟수 (Attempts)	관찰 성공 (Success)	성공률 (Success Rate)
24 시간 (24h)	6	2	~33.3%
48 시간 (48h)	6	1	~16.7%
96 시간 (96h)	2	2	100.0%

실험 결과, 부란 시간이 짧은 초기 배아일수록 관찰 성공률이 현저히 낮았으며, 96시간 배아는 100%의 성공률을 보였다.

초기 배아의 관찰 실패는 단순히 '성장 속도의 편차(variation)' 문제라기보다, 다음과 같은 두 가지 **기술적(practical)** 및 **환경적(environmental)** 요인이 복합적으로 작용한 결과로 분석된다.

1) 기술적 한계 (Handling Error)

96시간 배아는 크기가 크고 조직이 견고해 다루기 쉬운 반면, 24시간 및 48시간 배아는 극도로 작고(직경 수 mm) 투명하며 노른자 위의 얇은 막(배반엽) 형태로 존재한다. 따라서 알을 깨거나 배아를 노른자로부터 분리하는 과정에서, 미숙련된 기술로 인해 배아가 물리적으로 파괴되거나 배아를 식별하지 못해 유실되었다.

2) 환경 변수 및 배아 생존율 (Viability)

햄버거와 해밀턴(Hamburger & Hamilton, 1951)이 지적했듯이,(reference[2]) 부란기의 미세한 온도/습도 편차, 알의 신선도(산란 후 경과 시간), 유전적 요인 등은 배아의 발생 속도뿐만 아니라 초기 생존율(viability) 자체에 치명적인 영향을 미친다. 6개라는 적은 샘플 수(n)는, 이 중 일부가 무정란이거나 부란 초기 사멸(early death)할 경우, 관찰 가능한 배아의 수를 0에 가깝게 만들 수 있다.

위의 원인 분석을 바탕으로, 향후 실험의 신뢰도와 성공률을 높이기 위해 다음과 같은 개선이 필수적으로 요구된다.

1) 표본 수(n)의 대폭 증가 (Increase Sample Size)

가장 중요하고 즉각적인 해결책이다. 초기 배아의 생존율과 핸들링 성공률이 낮다는 것을 전제로, 통계적 유의성을 확보하기 위해 24시간, 48시간 배아의 배양 샘플 수(n)를 현재의 2~3배 이상(예: 15~20개)으로 대폭 늘려야 한다.

2) 환경 변수의 엄격한 통제 (Control Variables)

배아의 생존율을 높이기 위해, 산란일자가 명확한 신선한 유정란을 사용해야 하며, 부란기의 온도(약 37.5°C)와 습도가 일정하게 유지되는지 지속적으로 확인해야 한다.

요약하자면, 닳 배아 발생 실험은 충분한 샘플 수 확보, 엄격한 환경 통제, 그리고 초기 배아를 파괴하지 않는 섬세한 분리 기술이 동원될 시 성공률이 높아질 것으로 보인다.

VI. References

1. Carotenuto, R., Pallotta, M. M., Tussellino, M., & Fogliano, C. (2023). *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) as a Model Organism for Bioscience: A Historic Review and Perspective. *Biology*, 12(6), 890. <https://doi.org/10.3390/biology12060890>
2. Hamburger, V. and Hamilton, H.L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morphol.*, 88: 49-92. <https://doi.org/10.1002/jmor.1050880104>
3. Xenopus development stages. (2018, January 3). *XenWiki*. Retrieved 08:54, October 19, 2025 from https://wiki.xenbase.org/xenwiki/index.php?title=Xenopus_development_stages&oldid=46435.